

Aus dem Institut für Pathologie
der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz
(kommiss. geschäftsf. Direktor: Professor Dr. U. M. Gross)

**ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
DER WAND - STRUKTUR UND DES „SURFACE COAT“
DES ENDOTHELs DER AORTA BEI DER MAUS**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Joachim Jantke
aus Berlin

1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548401_0081

Aus dem Institut für Pathologie
der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz
(kommiss.geschäftsf. Direktor: Prof.Dr.U.M.Gross)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN DER WAND -
STRUKTUR UND DES "SURFACE COAT" DES ENDOTHEL DER
AORTA BEI DER MAUS



Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hans-Joachim Jantke
Berlin

Referent: Prof.Dr.H.J. S t o l p m a n n

Korreferent: Prof.Dr.H.-C. M e r k e r



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 21. April 1978

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	4
2. Material und Methodik	8
3. Befunde	11
3.1 Aufbau der Aortenwand anhand der Kontrollpräparate	11
3.1.1 Tunica adventitia	11
3.1.2 Tunica media	11
3.2 Aufbau der Tunica intima	13
3.2.1 Basale Befestigung des Endothels	13
3.2.2 Das Endothel	13
3.3 Oberflächenbeschaffenheit des Endothels	14
3.3.1 Lanthanefekte	15
3.3.2 Rutheniumroteffekte	15
3.3.3 Lanthanefekte nach vorheriger Spülung mit physiologischer NaCl-Lösung	16
3.3.4 Rutheniumroteffekte nach vorheriger Spülung mit physiologischer NaCl-Lösung	16
3.4 Zusammenfassung der Befunde	18
4. Diskussion	19
5. Zusammenfassung	28
6. Anhang - Abbildungen	29
7. Literaturverzeichnis	44

1. Einleitung

Elektronenmikroskopisch wurde die Aortenwand bereits wiederholt untersucht. Die häufigsten Untersuchungsobjekte waren vorwiegend Nager wie Kaninchen, Ratten und Mäuse. Erst in jüngster Zeit wurde auch das Miniaturschwein in die Untersuchungen mit einbezogen. Es eignet sich besonders für Untersuchungen in der Atheroskleroseforschung, weil die Gefäße mit den menschlichen Verhältnissen am besten vergleichbare Präparate bieten. Andererseits macht dieses Versuchstier ein großes Versuchslabor mit Anästhesiologie und Chirurgie mit einem großen finanziellen Aufwand erforderlich. Für unsere Untersuchungen wurden aufgrund unserer Fragestellung nach bestimmten Strukturdetails des Gefäßendothels Laboratoriumsmäuse verwendet.

Morphologische Untersuchungen des Aortenendothels am Beispiel von Kaninchenaorten wurden von BUCK (1957) und von TS'AO (1970) durchgeführt. Der morphologische Aufbau der Rattenaorta wurde von PEASE (1960) und von PAULE (1959, 1961, 1963) beschrieben. Altersabhängige Veränderungen der Strukturen der Mäuseaorta wurden von KARRER (1961) untersucht. Mit der Verfeinerung der Untersuchungsmethodik der Elektronenmikroskopie durch die Einführung zusätzlicher Kontrastierungsmethoden konnte die Aussagekraft elektronenmikroskopischer Bilder weiter gesteigert und die Erforschung von Detailfragen, unter anderem in der Gefäßmorphologie, intensiviert werden.

So wurde diese Untersuchung unter der Fragestellung durchgeführt, ob es möglich ist, den filamentären, offensichtlich polysaccharidhaltigen Belag, der auf Einzellern und Gewebszellen zu finden ist, auch auf Gefäßendothelien in Form des von BENNET (1963) postulierten sog. Glycocalyx darzustellen. Erste Vermutungen über einen Endothelbelag

wurden von CHAMBERS und ZWEIFACH (1974) geäußert. Sie vermuteten einen "endocapillary layer" auf den Kapillarendothelien, der als eine Fortsetzung des von ihnen beobachteten "intercellular cement", durchsetzt mit Plasmaprotein, auf der Endotheloberfläche gedacht war. Ebenso sprachen die Beobachtungen von COPLEY (1964, 1969, 1970) Anfang der sechziger Jahre für einen endo-endothelialen Fibrinfilz. Die Diskussion, ob es sich um einen fibrin-, heparin- oder polysaccharidhaltigen Belag handelt, blieb unentschieden, ein überzeugender elektronenmikroskopischer Nachweis blieb bis 1964 aus. Nachdem LUFT in mehreren Arbeiten (1965, 1964, 1964) die Methode der Kontrastierung mit Rutheniumrot erfolgreich angewandt hatte, konnte er 1966 einen endo-endothelialen Niederschlag von Rutheniumrot auf den Endothelzellen in Muskelkapillaren der Maus beobachten. Bei seinen Experimenten wurden Präparate von Mäusezwerchfellen in eine rutheniumrothaltige Fixierlösung eingebracht, um die Diffusion des Kontrastmittels in die unmittelbare Umgebung und das Lumen von Muskelkapillaren zu verfolgen. Die Interzellularräume wurden dabei reichlich mit Rutheniumrot beladen, darüber hinaus zeigte sich ein mehrere 100 Å in das Lumen hineinragender Kontrastmittelsaum auf der Endotheloberfläche. In Abwandlung dieser Methode wurden auch kurzzeitig intravasale Injektionen von Kontrastmittel in kleine Arterien (A.spermatika der Maus) vorgenommen, die ebenfalls zu einem Rutheniumrotbelag des Endothels führten.

In dieser Arbeit wurden gezielt große arterielle Gefäße, nämlich Mäuseaorten, mit rutheniumrothaltigen Lösungen perfundiert und die Reaktionen bzw. Ablagerungen der Substanz im Bereich der Aortenintima studiert.

Parallel dazu wurden unter den gleichen Bedingungen Mäuseaorten mit einem ebenfalls in der Elektronenmikroskopie verbreiteten Kontrastierungsmittel, Lanthannitrat, durch-

strömt, um die Beschaffenheit der Endotheloberfläche beschreiben zu können und um mögliche Unterschiede der Ablagerungen der veränderten Kontrastierungsmittel festzustellen.

Das Rutheniumrotkation ($\text{Ru}_3\text{O}_2(\text{NH}_3)_{14}^{6+}$) fand zuerst als Pectinfarbstoff in der Botanik Anwendung. Botaniker haben es zur semispezifischen Färbung von Pectinen in pflanzlichen Geweben benutzt (BONNER 1936, SCHNEPF 1963), bis es schließlich zur selektiven Anfärbung saurer Mucosubstanzen, wie Knorpelgrundsubstanz und sulfatierte Schleime, empfohlen wurde (FASSKE und STEIN 1965). Da Pectine in vieler Hinsicht mit den Mucopolysacchariden in tierischen Geweben vergleichbar sind, was ihre biologische Verwendung als Gerüstsubstanz, ihren kohlenhydrathaltigen, hochmolekularen Aufbau und Gehalt an reagiblen Gruppen betrifft, liegt eine Anwendung bei mikroskopischen Untersuchungen tierischer Präparate nahe. Rutheniumrot reagiert in einem neutralen oder schwach sauren Milieu mit Substanzen, die eine mäßige bis hohe elektronegative Ladungsdichte besitzen, wie z.B. saure Polysaccharide des tierischen Gewebes. Eine elektronenmikroskopisch verwertbare Kontrastierung entsteht aber erst während der OsO_4 Einwirkung, wobei diese Reaktion von LUFT (1964, 1966) mit einem durch Rutheniumrot katalysierten Redox-Prozeß, bei dem niedere Osmiumoxyde am oxydierten Substrat präzipitieren, erklärt wird. Aus diesem Grunde ist es notwendig, daß Rutheniumrot der Fixierungslösung hinzugefügt wird.

Lanthan eignet sich als Kontrastmittel zur Darstellung von Interzellularräumen und Zelloberflächen. 1967 wurde von REVEL und KARNOVSKY, basierend auf den Erfahrungen von DOGGENWEILER und FRENKS (1965), eine Methode zur Kontrastierung mit Lanthannitrat für die Elektronenmikroskopie beschrieben. Dabei wird 1%iges Lanthannitrat der Fixierungs-

lösung hinzugefügt. Diese Methode fand unter anderem Anwendung in den Arbeiten von OVERTON (1968), SCHATZKI (1969) und KARNOVSKY (1966). In der Gefäßmorphologie wurde Lanthan lediglich in einer Arbeit von GANG verwendet (1970). Bei diesen Untersuchungen über die Ultrastruktur der glomerulären Basalmembran der Maus sind durch Injektionen lanthanhaltiger Lösungen in die A. renalis auch Lanthanpartikel in das kapilläre Lumen gelangt. Eine Interpretation bezüglich der Endothelbeschaffenheit wurde dabei nicht angegeben.

Das histochemische Verhalten von Lanthan ist weitgehend ungeklärt. DOGGENWEILER und FRENK (1965) schließen aus ihren Beobachtungen an Nervenpräparaten, daß Lanthan aufgrund seiner stärkeren positiven Ladung (La^{+++}) Calcium (Ca^{++}) aus seiner Bindung verdrängt und sich an dessen Stelle bindet.

Bezüglich der Oberflächenbeschaffenheit von Zellen sind die Aussagen von LESSEPS (1967) von Bedeutung. In Gegenwart von Lanthan fixierte embryonale Hühnerzellen wiesen einen ca. 50 Å breiten äußeren elektronendichten Kontrastmittelniederschlag auf. Dieser Niederschlag ist das Äquivalent für ein lanthankontrastiertes Material (LSM, lanthanum-staining material), dessen Zusammensetzung nicht bekannt ist. LSM kann Lipide, Proteine und Polysaccharide enthalten, entweder einzeln oder in verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten. LESSEPS konnte bei seinen Versuchen LSM enzymatisch beeinflussen, eine besondere Empfindlichkeit aber nur gegenüber der Phospholipase C feststellen.

Da sowohl Rutheniumrot als auch Lanthannitrat geeignet sind, mit der Oberfläche von Zellen in Zusammenhang stehende Substanzen elektronenmikroskopisch darzustellen, wurden beide Substanzen in der vorliegenden Untersuchung verwendet, u.a. um eventuelle Unterschiede der Färbbarkeit oder die günstigere Darstellbarkeit des Oberflächenbelages festzustellen.

2. Material und Methodik

Zur Untersuchung gelangten die Aorten von elf weiblichen Mäusen im Alter von ca. drei Monaten. Die Tiere wurden in unterschiedlicher Weise in Äthernarkose präpariert und perfundiert. Die Fixierung und die weitere Aufarbeitung des Materials war bei allen Versuchen identisch. Als Präpariermodell wurde einer Maus in die freigelegte Vena cava inf. mittels einer feinen Kanüle Methylenblau injiziert, um die Perfusion des kleinen und des großen Kreislaufs verfolgen zu können. Die elf Mäuse wurden in folgender Weise präpariert:

1. Kontrolle:

Eine Maus diente als Kontrolltier, die Aorta wurde in Querschnitte zerlegt, fixiert und in Vestopal eingebettet.

2a:

Zwei Mäuse wurden mit einer unten beschriebenen lanthan-nitrathaltigen Fixierungslösung durchströmt. Dabei wurde bei einer Maus nach Eröffnung des Bauch- und Thoraxraumes eine Kanüle in den linken Ventrikel, später, um auch die Lunge zu durchströmen, in den rechten Ventrikel eingestochen und mit einer Dauerinfusionspumpe unter geringem und gleichmäßigem Druck die lanthanhaltige Fixierlösung infundiert. Der zweiten Maus wurde die gleiche Fixierungslösung mittels eines Perfusors in die Vena cava inf. injiziert. Dabei wurde darauf geachtet, die Tiere solange wie möglich am Leben zu erhalten, um die Kreislauffunktion für eine möglichst weitgehende und physiologische Verteilung der Lösungen im kleinen und besonders im großen Kreislauf auszunutzen.

2b: Bei weiteren zwei Mäusen wurde wie unter 2a verfahren unter Verwendung einer rutheniumrothaltigen Fixierungslösung.

3a: Bei weiteren drei Mäusen wurde nach Freilegung von Herz und Aorta über eine Kanüle, die in die Aorta descendens eingeführt worden war, das Gefäß mit physiologischer NaCl-Lösung blutleer gespült. Ein Abfluß wurde durch eine Inzision in Höhe der Bifurcatio aortae geschaffen. Anschließend wurde mit lanthanhaltiger Fixierungslösung durchgespült.

3b: Die letzten drei Mäuse wurden vom rechten Ventrikel aus mit physiologischer NaCl-Lösung solange durchspült, bis eine blutfreie Spülflüssigkeit erreicht war, um anschließend mit einer rutheniumrothaltigen Fixierungslösung, mit der die Aorten über mehrere Minuten perfundiert wurden, die Fixierung einzuleiten.

Die so vorbehandelten Aorten wurden präpariert und in ca. 3 mm lange Querschnitte zerlegt. Über 24 Stunden wurde bei allen Präparaten die eingeleitete Fixierung in einer ebenfalls lanthan- bzw. rutheniumrothaltigen Fixierungslösung fortgesetzt. Anschließend wurden die Präparate für 3 mal 15 Minuten in eine kontrastmittelhaltige Waschlösung eingebracht. Schließlich wurde das Material mit OsO_4 kontrastiert, indem es 1 Stunde lang in eine Lösung, bestehend aus gleichen Teilen Waschlösung und 2%igem OsO_4 gelegt wurde. Nachdem die Präparate noch einmal in Cacodylatpuffer gespült worden waren, konnten sie in einer aufsteigenden Azetonreihe jeweils (30%, 50%, 70%, 80%, 100%) entwässert und in steigender Konzentration (Azeton:Vestopal = 3:1, 1:1, 1:3, reines Vestopal) über vier Stunden mit Vestopal durchsetzt werden. Die Präparate wurden in Vestopal eingebettet und bei steigender Temperatur (max. 60°C) über drei Tage inkubiert. Dann wurden mit dem LKB Ulrotome III Semi- und Ultradünnschnitte hergestellt. Die Semidünnschnitte wurden für die Lichtmikroskopie und die Übersichtsaufnahmen mit Giemsa-

lösung gefärbt, die Ultradünnschnitte wurden mit Bleicitrat und Uranylacetat doppelkontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden am Elmiskop 101 Siemens vorgenommen.

Zusammensetzung der verwendeten Lösungen

Fixierungslösung:

13 ml 11%iges Glutaraldehyd
13 ml 2/10 m Cacodylat-Puffer
74 ml 1/10 m Cacodylat-Puffer
1 mg Lanthannitrat bzw. 150 mg Rutheniumrot

Waschlösung (3 x 15 min.):

100 ml 1/10 m Cacodylat-Puffer
1 g Lanthannitrat bzw.
0,08 g Rutheniumrot

Kontrastierung OsO_4 (1 Std.)

Waschlösung 1:1 gemischt mit 2% OsO_4
für Kontrollpräparate:
Cacodylatpuffer (pH 7,4) 1:1 gemischt mit
2 % OsO_4 .

3. Befunderhebung

3.1 Aufbau der Aortenwand anhand der Kontrollpräparate

Die Aorta der Maus gliedert sich von außen nach innen in drei Abschnitte (Tunicae).

- Tunica adventitia, die als äußerste Umkleidung das Gefäß umgibt
- Tunica media, die die mittlere und dickste Schicht darstellt
- Tunica intima, bestehend aus einer dünnen Endothelzellige.

3.1.1 Tunica adventitia

Die Tunica adventitia besteht aus locker aneinander gereihten Fibrozyten und zahlreichen elastischen und kollagenen Fibrillen.

3.1.2 Tunica media (extrazelluläres Material)

Das Gerüst der Tunica media wird durch 5-6 an der Zahl betragende Laminae elasticae gebildet. Diese schwankende Anzahl ist bedingt durch Aufzweigungen und damit Verdopplungen an vereinzelt Abschnitten. Wie die Übersichtsaufnahmen zeigen (Abb. 1a, 1b - s. Anhang) sind die elastischen Lamellen mehr oder weniger parallel angeordnet und weisen dem jeweiligen Kontraktions- bzw. Dehnungszustand entsprechend einen wellenförmigen Verlauf auf. Die Dicke der Lamellen beträgt im Durchschnitt $0,1\mu$, wobei besonders an den wellenförmig gewundenen Stellen wesentlich dünnere Abschnitte zu beobachten sind. Die Struktur des

Elastins erscheint homogen und nur vereinzelt lassen sich parallel gerichtete Substrukturen erkennen. Die Oberflächen der Lamellen erscheinen uneben, wobei die abgespreizten Ausläufer des Elastins auffallend gleichmäßig in nur eine Richtung weisen (Abb.2a). Zwischen den Laminae elasticae befindet sich je eine Lage schräg ausgerichteter glatter Muskelzellen. Über kurze Abschnitte, wo durch Kittsubstanz ein Zusammenhalten erreicht wird, stehen diese in enger Beziehung zu den elastischen Lamellen. Überwiegend jedoch wird diese enge Nachbarschaft durch Zwischenräume aus Grundsubstanz, in die zahlreiche Bündel kollagenen Fasermaterials eingelagert sind, unterbrochen, so daß ein unruhiger und aufgelockerter Aufbau imponiert. Die kollagenen Fibrillen der Tunica media haben eine Dicke von $20 - 30 \mu$ und eine Querstreifung von $640 \text{ \AA}$. Sie befinden sich zwischen den elastischen Lamellen und den glatten Muskelzellen in einer weitgehend parallel und wellenförmig verlaufenden Anordnung.

Die Zellen der Tunica media

Eine einfache Lage schräg ausgerichteter glatter Muskelzellen füllt die Zwischenräume der elastischen Lamellen aus (Abb.2a). Die einzelnen Zellen stoßen mit ihren "unit membranes" zum Teil dicht aneinander, häufig finden sich aber große Mengen kollagener Fibrillen oder Ausläufer des Elastins zwischen den Zellen. Zellorganellen wie Zellkerne, Mitochondrien und Vacuolen sind auf einigen Schnitten zu erkennen, nur vereinzelt sind parallel angeordnete Filamente erkennbar, die den Myofilamenten entsprechen.

Die der Zellform entsprechenden langgestreckten, großen Zellkerne weisen häufig tiefe Einstülpungen ihrer Doppelmembran auf. Die Doppelmembran ist in Abb.3 sichtbar, wobei in typischer Weise die innere Lage elektronenoptisch dichter erscheint als die dünne und nur angedeutet sichtbare und nicht immer angeschnittene äußere Lage.

3.2 Aufbau der Tunica intima

3.2.1 Basale Befestigung des Endothels

Der internen Lamina elastica sind eine dünne, aus einem dreidimensionalen Netzwerk bestehende Basalmembran und eine kontinuierliche Lage von Endothelzellen aufgelagert. Die basalen Zellmembranen der meist langgestreckten Endothelzellen liegen über ihre gesamte Länge unmittelbar der Basalmembran auf (Abb.4a). Auf einigen Schnitten dagegen ist eine teilweise arkadenähnliche Ablösung der Zellmembran von ihrer Unterlage zu beobachten (Abb.3). In nahezu regelmäßigen Abständen von ca. $0,4\mu$ bleibt aber die durchweg intakte Doppelmembran fest haften und ragt zapfenförmig bis zu einem Viertel der Lamellenbreite in die Lamina elastica hinein. Das in diesen Zapfen befindliche Cytoplasma zeigt elektronenoptische Verdichtungen von teils granulärer, teils filamentärer Struktur nach Art von "dense areas". Auch deutliche extrazelluläre filamentäre Strukturen, die sich zwischen den ausgezogenen endothelialen Doppelmembranen und Teilen der Basalmembran ausspannen, sind nachweisbar.

3.2.2 Das Endothel

Das das Aortenlumen auskleidende Endothel setzt sich aus einer durchgehenden einschichtigen Lage meist langgestreckter, flacher Endothelzellen zusammen, die einer dünnen Basalmembran aufsitzen. Der Zellform entsprechend sind die Zellkerne ebenfalls länglich und abgeplattet und weisen deutliche Einstülpungen der Kernmembran auf. Aber auch kugelförmige, weit in das Lumen hineinreichende Endothelzellen mit einem entsprechend runden Kern lassen sich in kontra-

hierten Gefäßen beobachten. Zellorganellen wie endoplasmatisches Retikulum, Mitochondrien, große flüssigkeitsgefüllte Vacuolen und cytopematische Vesikel sind zu erkennen. Die typischen Haftstellen der Endothelzellen untereinander, die sog. "tight junctions", die durch die Verschmelzung der jeweiligen äußeren Schicht der unitmembrane gekennzeichnet sind, lassen sich nur an einigen Stellen des direkten Kontaktes der Endothelzellen darstellen (Abb. 10b). Da es bei beiden Kontrastmitteln zu einem Eindringen in interzelluläre Zwischenräume kam, kann an den Stellen, an denen das vorgedrungene Kontrastmittel aufhört, entsprechend den Beobachtungen von LUFT (1966), eine tight junction bzw. zona occludens angenommen werden. Diese Abschnitte des direkten zellulären Kontaktes sind nämlich für Substanzen dieser Art nicht passierbar.

Bei allen Präparaten lassen sich in subendothelialen Abschnitten Lanthan- bzw. Rutheniumrotpartikel nachweisen (Abb. 4a). Sowohl bei den Schnitten, die eine Ablösung der basalen Endothelmembran im Sinne der oben beschriebenen Veränderungen zeigen, als auch bei den Schnitten, bei denen eine durchgehende feste Haftung der Endothelzellen auf der Basalmembran erhalten ist, kann ein mehr oder weniger dichter Saum von Lanthan- bzw. Rutheniumrotmaterial beobachtet werden.

3.3 Oberflächenbeschaffenheit der Endothelzellen

Die Darstellung der freien Endothelzellenoberfläche unter besonderer Berücksichtigung der durch Lanthan- und Rutheniumrotperfusion erzeugten Kontrastmitteleffekte führt zu folgenden Befunden.

3.3.1 Lanthannitrateffekte

Die Schnitte der mit lanthanhaltigen Lösungen perfundierten Präparate lassen einen ca. 3 bis 4 μ breiten feinstfilamentären, unregelmäßig dreidimensional vernetzten Saum erkennen (Abb. 2b, 3), dessen Filamente ca. 8 m μ stark sind. Nach Struktur und Elektronendichte dürfte es sich um Eiweiß oder eiweißhaltige Substanzen handeln. Dieser Effekt, der die Beurteilung der unmittelbaren Membranoberfläche erschwert, ist nur auf diesen Schnitten zu beobachten. Unmittelbar auf der Zellmembranoberfläche und in den zellnahen Anteilen dieses filamentären Saumes lassen sich sehr kleine Lanthanpartikel erkennen. In den Interzellularräumen ist es bei diesen Präparaten zu einem sehr massiven und dichten Niederschlag von Lanthan gekommen, und an zahlreichen Stellen ist eine Einlagerung des Kontrastmittels in das Cytoplasma erkennbar. Entlang des Interzellularspaltes haben sich perlschnurartig angeordnete, lanthanhaltige Vesikel gebildet.

3.3.2 Rutheniumroteffekte

Die Präparate der über den linken Herzventrikel mit Rutheniumrot perfundierten Aorten lassen eine Ablagerung des Kontrastmittels auf der Endotheloberfläche vermissen. Dagegen sind im subendothelialen Bereich dieser Schnitte zahlreiche körnelige Rutheniumrotpartikel erkennbar. Die Perfusion mit Rutheniumrot durch die Vena cava inf. über Herz und Lunge bis zur Aorta führt dagegen, wie in Abb.4a erkennbar, sowohl zu einem Belag von Kontrastmittel auf der Endothelmembran als auch im subendothelialen Bereich. Die Abb.4a, 4b zeigen einen dichten, zum Teil noppenartigen Saum des Rutheniumrot mit einer Dicke von ca. 15 m μ , der direkt auf der teilweise rechtwinklig angeschnittenen Doppellamelle

der Endothelzelle sichtbar ist. Zahlreiche, zum Teil rutheniumrothaltige Vesikel bis zu einer Größe von $6,4 \text{ m}/\mu$, befinden sich im Cytoplasma (Abb.4a).

3.3.3 Lanthaneffekte nach vorheriger Spülung mit physiologischer NaCl-Lösung

Mit NaCl-Lösung blutleergespülte und anschließend mit lanthanhaltiger Fixierungslösung perfundierte Präparate ergeben folgende Befunde:

Die Abb.5 läßt auf der cytoplasmatischen Doppellamelle der Endothelzelle einen dichten, zum Lumen etwas wolzig aufgelockerten Saum feinsten Lanthanpartikel erkennen, der sich gegen das optisch leere Lumen gut abhebt. Seine Dicke beträgt ca. $0,2 \text{ m}/\mu$. Auch intrazelluläres Lanthan ist in basisnahen Abschnitten der Endothelzelle sichtbar. Entsprechend der Vorbehandlung sind die Lumina dieser Schnitte weitgehend frei von Plasmaproteinen und Blutzellen.

3.3.4 Rutheniumroteffekte nach vorheriger Spülung mit physiologischer NaCl-Lösung

Von den mit physiologischer NaCl-Lösung gereinigten und mit Rutheniumrot perfundierten Präparaten konnten aufschlußreiche Bilder gewonnen werden. Auf den Abb. 6a, 6b, 7, 8, 9a, 9b ist ein gut erhaltenes Endothel erkennbar, dessen freie Oberfläche von einem dichten Rutheniumrot-saum bedeckt ist. Der äußeren Lamelle der cytoplasmatischen Membran, die streckenweise deutlich zu erkennen ist (Abb.6b), sitzt direkt ein kontinuierlicher, ca. $15 \text{ m}/\mu$ dicker Rutheniumrotbelag auf. Lumenwärts lockert sich der Belag auf, wird wolzig und zeigt feine in das Lumen gerich-

tete Ausläufer. Weiterhin sind, wie auch bei anderen Präparaten gesehen werden konnte, schmale ausgezogene Zellfortsätze getroffen, deren Oberfläche der oben beschriebenen Zelloberfläche entspricht (Abb.6a).

Dicht unterhalb der Zellmembran sind zahlreiche, von einer Doppelmembran gebildete und mit Rutheniumrot gefüllte, cytopemptische Vesikel sichtbar (Abb.6a, 9a).

Vereinzelt können auf anderen Schnitten mehrere untereinander und an dem Endothel haftende Erythrozyten beobachtet werden. Die auf den Abb.7, 8, 9a, 9b vorhandenen Rutheniumrotpartikel sind von körneliger Natur und bedecken in mehr oder weniger lichten Abständen nicht nur die Endothel-, sondern auch die Erythrozytenoberfläche. Feinstes filamentäres bzw. wolkiges Material, in das Rutheniumrot eingebettet ist, sitzt der Erythrozytenmembran auf.

Abschnittsweise findet sich auch bei einem weiteren Präparat dieses Versuches körniges Rutheniumrot auf der Endotheloberfläche, eingebettet in granuläres, wolkiges Material (Abb. 10a, 10b). Die Partikelgröße beträgt ca. 1 μ /u. Ein mit reichlich Kontrastmittel gefüllter Interzellularspalt mit beiderseitiger Bildung von rutheniumrothaltigen Vesikeln wird in der Abb. 10b deutlich.

3.4 Zusammenfassung der Befunde

Die mit lanthan- bzw. rutheniumrothaltigen Lösungen perfundierten Aorten lassen mit nur einer Ausnahme einen deutlichen Kontrastmittelbelag auf ihrer freien, unmittelbaren Endotheloberfläche erkennen. Die Beschaffenheit des Belages ist bei beiden Substanzen und Methoden unterschiedlich. Die Perfusion mit Lanthannitrat führte zu einem nur dünnen Lanthanniederschlag auf dem Endothel. Bei diesen Präparaten ist häufig eine reichliche Ansammlung des Lanthannitrates in den Interzellularräumen zu beobachten, die dadurch sogar verbreitert erscheinen.

Bei den mit physiologischer NaCl-Lösung gereinigten und lanthanperfundierten Präparaten ist ein gleichmäßiger, dichter und dickerer Saum feinsten Lanthanpartikel erkennbar, dagegen weniger interzellulär abgelagertes Kontrastmittel.

Der nach Rutheniumrotperfusion entstandene Kontrastmittelbelag besteht entweder aus granulären Rutheniumrotpartikeln mit der Größe von ca. 15μ oder verdichtet sich bei den blutleergespülten Aortenpräparaten zu einem kontinuierlichen, ca. 15μ dicken noppenartigen Saum. Bei diesen Präparaten fällt die ausgeprägte Bildung von rutheniumrothaltigen cytoplasmatischen Vesikeln unmittelbar unter der Zellmembran auf. Auf mehreren den Endothelzellen und untereinander adhärenen Erythrozyten ist körneliges Rutheniumrot, eingebettet in feinstfilamentäres und granuläres Material auf der Erythrozytenmembran erkennbar.

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Mäuseaorten in vivo mit lanthannitrat- bzw. rutheniumrothaltigen Lösungen perfundiert, fünf Aorten nach vorheriger Durchspülung mit physiologischer Kochsalzlösung und lichtmikroskopisch bzw. elektronenmikroskopisch untersucht. Es wurden die Wege und unterschiedlichen Effekte der beiden Kontrastmittel auf der Endotheloberfläche und im subendothelialen Bereich studiert. Ferner wurde an einem nicht vorbehandelten Kontrollpräparat der Aufbau der Aortenwand am Beispiel der Maus beschrieben. Die Perfusion und Präparation der Aorten hat sich wegen der kleinen anatomischen Verhältnisse als schwer durchführbar erwiesen. Die Anfertigung der Semi- und Ultradünnschnitte war erschwert, da die Einbettung der Präparate in Vestopal als problematisch bezeichnet werden kann. Weil die Aortenquerschnitte zwecks Orientierung nach dem Lumen recht groß gehalten werden mußten (2-3 mm), blieb die Durchtränkung des Materials mit Vestopal teilweise unvollständig, was sich negativ auf die Schneidbarkeit der Präparate auswirkte. Die weitgehende Entfernung der Adventitia, so wie sie von PEASE (1960) an Rattenaorten praktiziert wurde, und die Verwendung möglichst kleiner Aortenquerschnitte, sofern an Mäuseaorten durchführbar, ist deshalb empfehlenswert.

Der dreischichtige Aufbau der Aortenwand der Maus entspricht den gefäßmorphologischen Untersuchungsergebnissen anderer Untersucher (KARRER 1961). Morphologische Äquivalente einer Innervation der Tunica media, etwa in Form von Nervenbündeln oder Nervenendigungen, die bis zu den glatten Muskelzellen vordringen, konnten nicht gesehen werden. Demnach kann ebenso bei der Rattenaorta - wie PEASE und PAULE (1960) - oder bei den Piagefäßen - wie PEASE und MOLINARI (1960) - beschrieben, auch bei der Maus eine nervale Innervation der

großen arteriellen Gefäße ausgeschlossen werden.

Die auf der Abb.3 erkennbare arkadenähnliche Ablösung der basalen Endothelzellmembran läßt Rückschlüsse auf den Befestigungsmechanismus der Endothelzellen auf ihrer Unterlage zu. Vergleichbare Artefakte, und um solche handelt es sich ja, konnten von STEHBENS am Kapillarendothel und lymphatischen Endothel des Frosches, sowie an der Kaninchenaorta (1966 bzw. 1960) und von TS'AO (1970) ebenso an Endothelien der Kaninchenaorta hervorgerufen werden. Die Präparate wurden hypotonen Lösungen oder mechanischen Alterationen durch standardisierte Ligaturen ausgesetzt. Das Resultat war die teilweise Ablösung der Endothelzelle und das Hervortreten der zapfenförmigen sog. "half desmosomes" (STEBBENS) oder besser "dense areas" (TS'AO). Auf unseren Schnitten erscheinen die Endothelzellen durch Schrumpfung verkleinert und mit einem vermehrt dichtem Cytoplasma, was einer kurzzeitigen Exposition mit hypertoner Lösung entspricht. Aber auch ein geringer Kontraktionszustand der Gefäßwand ist als Ursache des Artefaktes möglich.

An Rattenkapillaren und Aorten auftretende derartige Effekte wurden von REALE (1965) als Folge von Kontraktionen der Gefäßwand interpretiert. Somit können zwei eng verflochtene Befestigungsmechanismen der Endothelzellen angenommen werden: eine relativ bewegliche und diffuse Komponente, die die sub-endothelialen Druck- und Scherkräfte abfängt und eine Reihe zahlreicher, lokaler relativ fester und widerstandsfähiger Punkte, die ein Abgleiten des Endothels verhindert.

Die Existenz einer Basalmembran in großen arteriellen Gefäßen des Menschen und anderer Vertebraten ist in zahlreichen älteren Arbeiten abgelehnt worden (GEER 1961, HAM 1962,

HACKENSELLNER 1961, KEECH 1960, KARRER 1961, PAULE 1963, REALE, RUSKA 1965). Andere Autoren dagegen konnten einen eindeutigen Nachweis für eine subendotheliale Basalmembran sowohl an großen Arterien, einschließlich Aorta, als auch an großen Venen führen (FRENCH 1963, GEER 1965, TS'AO 1967, 1970, 1970). Auf unseren Schnitten ist unterhalb der abgehobenen Endothelzellen ein zarter Saum eines dreidimensionalen Faserwerks erkennbar, der einer Basalmembran entspricht. Die Herkunft dieses Materials ist schwer nachweisbar, so daß wir uns auf die Untersuchungen von NISSING und ROLLHÄUSER (1954) und PIERCE (1964) beziehen, wenn wir die Basalmembran als ein Produkt der Endothelzelle ansehen. Die Annahme von BIERRING (1963), daß eine Basalmembran die Diffusion vermindern und damit die Ernährung des inneren Drittels der Aortenwand verhindern würde, und daß aus diesem Grund die Existenz einer eigenständigen Basalmembran abgelehnt werden müßte, können wir nicht unterstützen. Die Dicke und Dichte der auf unseren Schnitten beschriebenen Basalmembran ist dafür zu gering.

Die typischen Haftstellen der Endothelzellen untereinander sind die sog. "tight junctions" nach LUFT (1966). Drei elektronenoptisch dichte und zwei dazwischenliegende helle Lagen sind durch einen engen Kontakt der beiden Zellmembranen entstanden. Nach LUFT (1966) handelt es sich bei der mittleren elektronenmikroskopisch dichten Lage um die beiden verschmolzenen äußeren Blätter der Endothelzellmembranen. Ein derartig enger Kontakt erklärt, weshalb ein Vordringen des Kontrastmittels über den Interzellularraum bis in subendotheliale Abschnitte nicht erfolgt ist.

Das auf unseren Schnitten im subendothelialen Bereich vorhandene Lanthan bzw. Rutheniumrot ist durch folgende Transportmechanismen dorthin gelangt. Viele Autoren, die über Kapillaren (LUFT 1966, MAJNO 1963, MERKER 1966, RHODIN 1962) oder große Arterien (BUCK 1957, 1958, 1958b, REALE 1965)

gearbeitet haben, haben die Bildung von cytopemptischen Vesikeln beschrieben. Ein aktiver, transzellulärer Transport mittels cytopemptischer Vesikel, sog. Cytopempsis (MOORE 1957) wird auf unseren Schnitten deutlich. Durch Einstülpung und Abschnürung der mit Kontrastmittel behafteten Zellmembran entstehen cytopemptische Vesikel, die das Kontrastmittel in Richtung Basalmembran transportieren, es durch die basale Zellmembran schleusen und in der Basalmembran ablagern. Durch ein zeitlich unterschiedliches Einsetzen der Fixierung der Endothelzellen werden die einzelnen Abschnitte des Transportes deutlich. Es läßt sich die apikale Bildung kontrastmittelbeladener Vesikel bis zur subendothelialen Ablagerung des Rutheniumrot verfolgen.

Auch intrazelluläres Rutheniumrot, das offensichtlich zu einer Verbreiterung des Interzellularraumes geführt hat, so wie es SCHATZKI (1969) an Leberpräparaten beobachten konnte, gelangt in das Zellinnere. Rutheniumrotgefüllte Vesikel verschiedener Größe sind beiderseits des Interzellularspaltes entstanden und leiten den Abtransport ein.

Die Perfusion der Aorten mit lanthan- bzw. rutheniumrothaltigen Lösungen hat die Darstellung eines endo-endothelialen Belages ermöglicht. Die Kontrastmittel werden entsprechend den in der Einleitung angeführten elektrochemischen Mechanismen durch den endothelialen Belag fixiert. Lanthan, dessen Bindungsmechanismus noch zur Diskussion steht, hat zu einem dichten kontinuierlichen und homogenen Saum von ca. $0,2 \text{ m}/\mu$ Dicke geführt. Substrukturen des Lanthanniederschlages sind aufgrund der geringen Partikelgröße des Lanthan nicht erkennbar, vielmehr ist es zu einer gleichmäßigen elektronenmikroskopischen Darstellung des "fuzzy coat" gekommen. Bei dem auf den lanthanperfundierten Schnitten vorhandenem, feinstfilamentärem, drei-

dimensional vernetztem Material handelt es sich um eiweißhaltige Substanzen aus dem Blutplasma, die in keinem Zusammenhang mit der Lanthankontrastierung und dem "fuzzy coat" stehen.

Die Perfusion der Aorten mit rutheniumrothaltigen Lösungen hat ebenfalls eine gute Darstellung des endo- endothelialen Belages ermöglicht. Hierbei ist es zu einer Bindung granulärer Rutheniumpartikel an der Oberfläche des "fuzzy coat" gekommen, wobei entsprechend der Kontrastmittelkonzentration mehr oder weniger deutlich einzelne Rutheniumpartikel erkennbar sind. Wenn man den bekannten Reaktionsmechanismus des Rutheniumrot in die Überlegung mit einbezieht, läßt sich neben dem Nachweis eines endothelialen Belages auch eine indirekte Aussage über die Zusammensetzung machen. Da Rutheniumrot in Gegenwart von OsO_4 mit sauren Polysacchariden zu reagieren vermag, kann eine Polysaccharidkomponente des "fuzzy coat" angenommen werden.

Da aber durch COPLEY und SCHEINTHAL (1970) zusätzlich eine Interaktion des Rutheniumrot mit Fibrinogen und Fibrin nachgewiesen werden konnte, kann nicht uneingeschränkt angenommen werden, daß die Bindung des Rutheniumrot allein durch den Gehalt an Polysacchariden im "fuzzy coat" bewirkt werden.

Eine weitergehende qualitative Aussage erlaubt die Untersuchung dagegen nicht, vielmehr bietet sie die Nachweismöglichkeit polyanionischer Gruppen im "fuzzy coat".

Das über die Oberflächenbeschaffenheit der Endothelzelle Gesagte kann aufgrund der Befunde auch auf Erythrozyten bezogen werden. Eine deutliche Bindung von Kontrastmittelpartikeln an der Erythrozytenoberfläche ist erkennbar, wenngleich nicht so regelmäßig und konzentriert wie auf den Endothelzelloberflächen. Untersuchungen von MARCHESI et al. (1972)

an Erythrozytenmembranen haben die Beziehungen der Glycoproteide zur Zellmembran verdeutlicht. Danach überragt das hydrophile Ende die Zelloberfläche und ermöglicht mit ihrer polyanionischen Komponente die elektrostatische Bindung der Kontrastmittel an der Membranoberfläche. Das hydrophobe Ende der Glycoproteide ist in der Phospholipidschicht der Zellmembran verankert. Ein vergleichbarer "fuzzy coat" wie auf den Gefäßendothelien läßt sich auch als "enteric coat" auf Dünndarmepithelien nachweisen (MERKER 1969). Ihm kommen mehrere mögliche funktionelle Bedeutungen zu. Bei der Resorption von Kohlenhydraten bringt er möglicherweise das Substrat zum Haften und begünstigt ein besseres Angreifen der Enzyme. Andere größere Partikel, wie Bakterien werden durch die Schutzfunktion des "enteric coat" am Eindringen in die von ihm apikal abgedeckten Zwischenräume der Microvilli gehindert. Ferner werden "knobs", gestielte enzymatisch aktive Partikel, die außen der Membran der Microvilli aufsitzen, in den "enteric coat" lokalisiert.

Die Verteilung und Bindung der Kontrastmittel ist nach PICKARTZ und STOLPMANN (1973) von mehreren Faktoren abhängig; von der Art des Kontrastmittels und des jeweils am Bindungs-ort herrschenden Ionenmilieus, sowie vom Alter und Funktionszustand der Endothelzellen. In ihren mit Lanthannitrat und Rutheniumrot perfundierten Leber- und Nierenpräparaten findet sich in den Gefäßen eine diskontinuierliche und grobflockige Anlagerung des Lanthannitrates sowie eine Rutheniumrotanlagerung in Form eines kontinuierlichen Saumes. Weshalb sich bei unseren Präparaten die Verhältnisse eher umgekehrt darstellten, mag durch die oben erwähnten Faktoren bedingt sein.

Das Vorhandensein beider Kontrastmittel in und auf dem endo-endothelialen Belag ist das Ergebnis einer elektrostatischen Bindungsreaktion und nicht die Folge einer willkürlichen Ablagerung, hervorgerufen durch ungünstige Strömungsverhältnisse. Dafür sprechen auch die oben beschriebenen für beide Kontrastmittel typischen Verteilungsmuster und das Fehlen von Kontrastmitteldepots in Falten und Endothelnischen, in denen eine Strömungsverlangsamung anzunehmen ist. In den Gefäßen ist der "fuzzy coat" von Bedeutung für transmembranöse Transportvorgänge der Endothelzelle und dient darüber hinaus als äußerste Kontaktstelle der Gefäßwand zum Blut. Thrombose- und Atheroskleroseentstehung als Folge gestörter Funktionen zwischen Intima und Blut sind die wichtigsten pathologischen Veränderungen, auf die der "fuzzy coat" Einfluß nehmen könnte. So ist der endo-endotheliale Belag als der Ort denkbar, an dem physiologische Prozesse, wie der Austausch und Metabolismus von Blutbestandteilen unabhängig vom strömenden Blut stattfinden könnte. Für diese Annahme gibt es aus dem Lipidstoffwechsel und damit für die Atherogenese bereits weitreichende Hinweise. Die Aktivität lipolytischer Enzyme, d.h. die Hydrolyse der Triglyzeride durch die Lipoproteinlipase in Chylomikronen oder very low density lipoproteins (VLDL) ist nach den Untersuchungen von GRETEN (1974) nicht im strömenden Blut, sondern am Endothel bestimmter Gewebe zu suchen. EINHOLM et al. (1975) konnte wiederum anhand von färberischen Charakteristika nachweisen, daß lipolytische Enzyme als Glycoproteine anzusehen sind und damit dem postulierten chemischen Aufbau des endo-endothelialen Belages verwandt sind. Diese Zusammenhänge veranlaßten ZILVERSMITH (1973) zu der Hypothese, daß die Atherogenese möglicherweise als eine Folge eines gestörten Katabolismus der Lipoproteine in unmittelbarer räumlicher Nähe der Gefäßwand resultiert.

Wird eine elektrostatische Bindungsreaktion zwischen dem durch seinen Anteil an Polyanionen insgesamt elektro-negativen endo-endothelialen Belag und den elektropositiven Kontrastmitteln zu Grunde gelegt, sind Rückschlüsse auf die Viskosität des Blutes und die Thrombogenese möglich. Die Viskosität des Blutes ist an fibrinbenetzten und damit negativen Oberflächen niedriger als an Glas oder anderen neutralen Kontaktflächen. Die Oberflächennegativität sowohl der Blutzellmembranen als auch des Endothels bewirkt nach OKA (1975) eine abstoßende Reaktion der Membranen und damit Erniedrigung der Blutviskosität. Verlust der elektrischen Oberflächenladungen führt wiederum zu Erhöhung der Viskosität, Hämostase und damit zur Teilursache einer Thrombogenese. Unter pathologischen Bedingungen ändern Plasmaproteine, insbesondere Fibrinogen, ihre Strukturen einschließlich ihrer elektrischen Eigenschaften und können damit ebenso das Verhalten der Thrombozyten und der Gerinnungsfaktoren in Richtung auf eine Thrombogenese verändern. Aussagen über die Permeabilität des Endothels und der Aortenwand, wie sie ebenfalls für die Pathogenese der Atherosklerose von Interesse sind, können nur mit Einschränkungen getroffen werden, da die hier verwendeten Kontrastierungsmittel anderen Reaktionsmechanismen mit den Endothelzellen unterliegen könnten, als Lipide oder Proteine.

Deutliche Parallelen lassen sich jedoch zu einem anderen, von KUROZUMI (1974) verwendeten Kontrastierungsmittel ziehen. Bei diesen Vergleichsuntersuchungen von Aorta und Basilararterie von Kaninchen mit Peroxidase bzw. Ferritin, lassen sich ebenso wie beim Lanthannitrat und insbesondere Rutheniumrot ein transzellulärer Transport durch Vesikelbildung und interzelluläre Ablagerungen beobachten. Der nur relativ kurze Kontakt des 15 Minuten vor Präparation der Aorten injizierten Ferritin ermöglichte bereits einen

transzellulären Transport in den subendothelialen Raum. Dabei konnte eine Veränderung der Endothelpermeabilität nach unterschiedlich langen cholesterinhaltigen Diäten und Hypercholesterinämien nicht nachgewiesen werden. Diese Aussage kann in Anbetracht des auffallend ähnlichen Verhaltens von Rutheniumrot und Ferritin mit großer Wahrscheinlichkeit auch auf Rutheniumrot angewandt werden. In bereits arteriosklerotisch veränderten Gefäßendothelien wäre eine Veränderung der polyanionischen Bindungskapazität für die Kontrastmittel denkbar und würde an den Gefäßendothelien ein anderes Verteilungs- und Konzentrationsmuster morphologisch faßbar machen.

Auf die Unterschiede von Morphologie und Permeabilität von Aortenbogen, oberer und unterer Bauchaorta, wie sie in Arbeiten von BELL, ADAMSON und SCHWARTZ (1974) unter Verwendung von J^{131} Albumin oder Evans Blue durch FRIEDMAN und BYERS (1963), MCGILL, GEER und HOLMAN (1957), PACKHAM, ROWSELL, JØRGENSEN und MUSTARD (1967), SOMER, EVANS und SCHWARTZ (1972) beschrieben wurden, konnte in dieser Untersuchung nicht eingegangen werden. Bei der Größe der Mäuseaorten erwies sich eine Zuteilung der Aortenquerschnitte zu definierten Aortenabschnitten als nicht zweckmäßig.

5. Zusammenfassung

Licht- und elektronenmikroskopisch wurde der Aufbau der Aortenwand der Maus untersucht. Nach Perfusion von Mäuseaorten mit den Kontrastierungsmitteln Rutheniumrot und Lanthannitrat konnte elektronenmikroskopisch ein unterschiedliches Verhalten der Kontrastierungsmittel sowohl unmittelbar auf und unter der Endothelzelloberfläche als auch in den Interzellularräumen beobachtet werden. Rutheniumrot und Lanthannitrat folgen einer elektrostatischen Bindung an einem endo- endothelialen Belag des Aortenendothels und der Erythrozyten, wodurch die Existenz des sogenannten "fuzzy coat" nachgewiesen werden konnte. Die physiologische und pathophysiologische Bedeutung des endo-endothelialen Belages für Blutgerinnung- und viskosität, sowie für die Gefäßwand wurden unter Berücksichtigung der Literatur diskutiert.

A N H A N G

(Abbildungen)



Abb. 1a, 1b: Mäuseaorta. Lichtmikroskopische Übersichtsaufnahmen von Aortenquerschnitten. Vergr.: 100:1. Bluthaltiges Lumen (Abb. 1a) nach Lanthanperfusion ohne vorherige Ausspülung mit physiologischer NaCl-Lösung. Optisch leeres Lumen in Abb. 1b nach vorangegangener Durchspülung mit physiologischer NaCl-Lösung und anschließender Rutheniumrotperfusion. Die Aortenwände lassen 5 - 6 Laminae elasticae mit Aufzweigungen (Pfeile) erkennen. V = Vene, A = Arterie, F = perivaskuläres Fett.

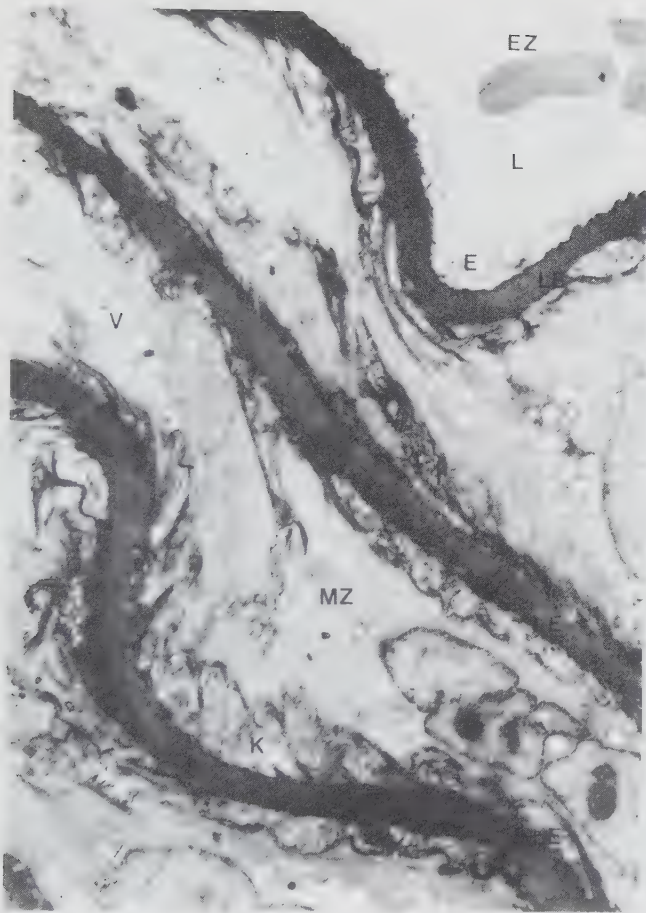


Abb. 2a: Mäuseaorta (Kontrolle). Vergr.: 5500:1.
Ausschnitt der Aortenwand mit 3 Laminae elasticae (LE_{1-3}),
dazwischen glatte Muskelzellen (MZ) mit Schrägorientierung
zu den elastischen Lamellen, Bündel kollagener Fibrillen (K)
eingebettet in Grundsubstanz.
L = Lumen, E = Endothel, EZ = Erythrozyt, V = Vacuolen.

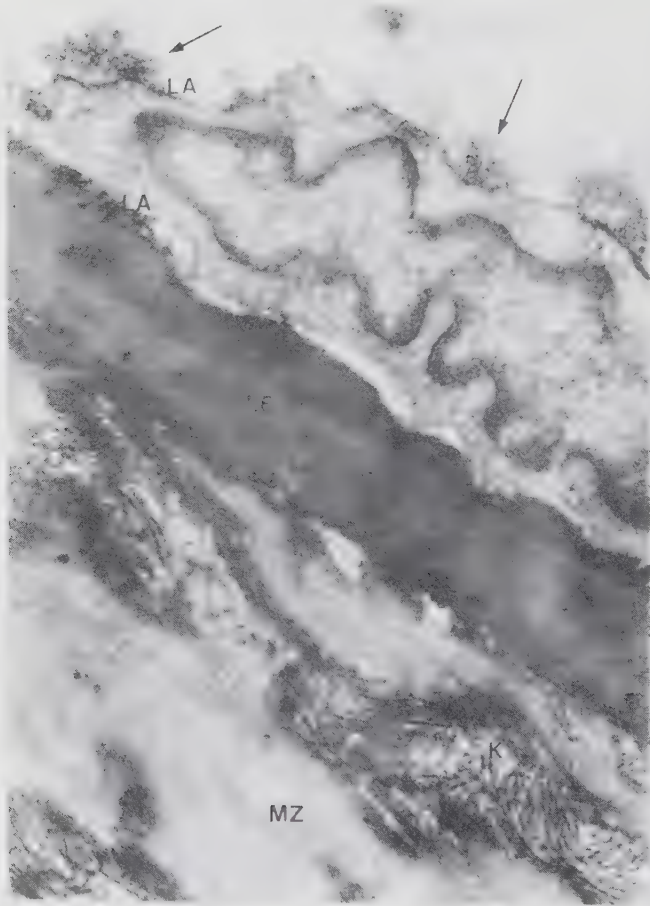


Abb.2b: Mäuseaorta. Vergr.: 28600:1.

Lanthanperfundierte Aorta mit feinstilamentärem Niederschlag (Pfeile) auf der Endothelzellenoberfläche. Teilweise abgelöste Endothelzelle mit Kern und nur geringem oberflächlichem und subendotheliale Lanthanvorkommen (LA).

LE = Lamina elastica, K = kollagene Fibrillen, MZ = glatte Muskelzelle.

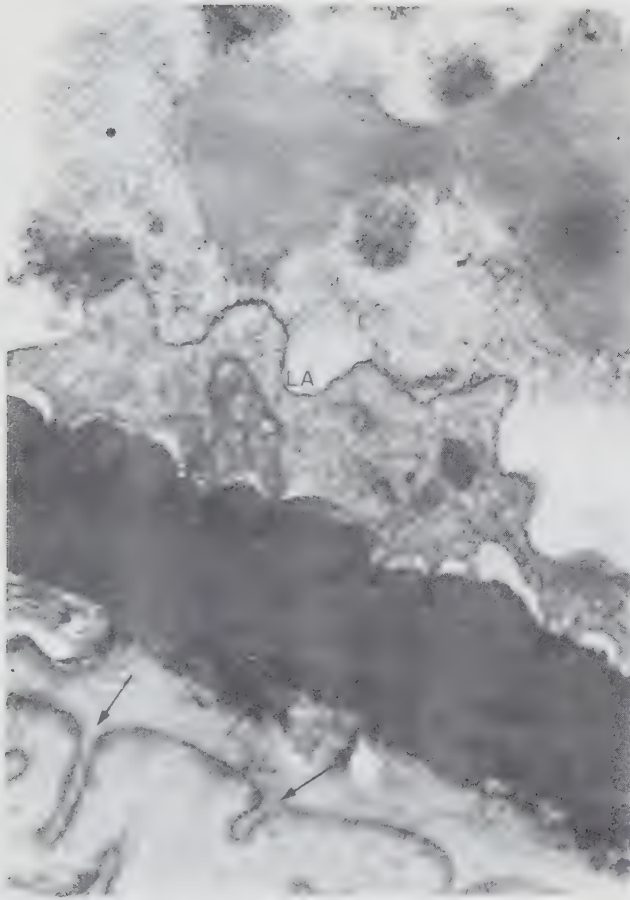


Abb.3: Mäuseaorta. Vergr.: 24200:1.

Lanthanperfundierte Aorta mit feinstfilamentärem Niederschlag von eiweißhaltigem Material im Lumen (+). Dünner Lanthanniederschlag (LA) auf arkadenförmig abgelöster und zapfenförmig nach Art von "dense areas" in die elastische Lamelle hineinragender Endothelzelle. Tief eingestülpte Kernmembran einer glatten Muskelzelle mit dicker innerer und dünner äußerer Lamelle (Pfeile).

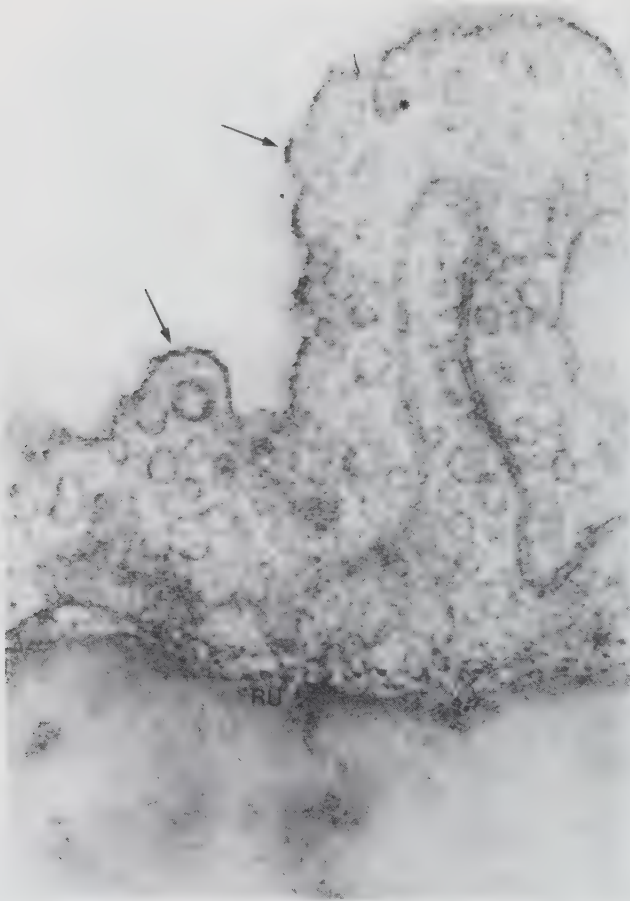


Abb. 4a: Mäuseaorta. Vergr.: 84000:1.

Rutheniumrotbelag auf der Doppelmembran (Pfeile) einer Endothelzelle. Intrazelluläre und subendotheliale Rutheniumrotpartikel (RU). Zahlreiche rutheniumrothaltige Vesikel (ca. 6,4 m μ). Bildung eines Vesikels aus der Zellmembran durch Abschnürung und Zusammenfließen mit einem zweiten Vesikel am oberen Bildrand (+).

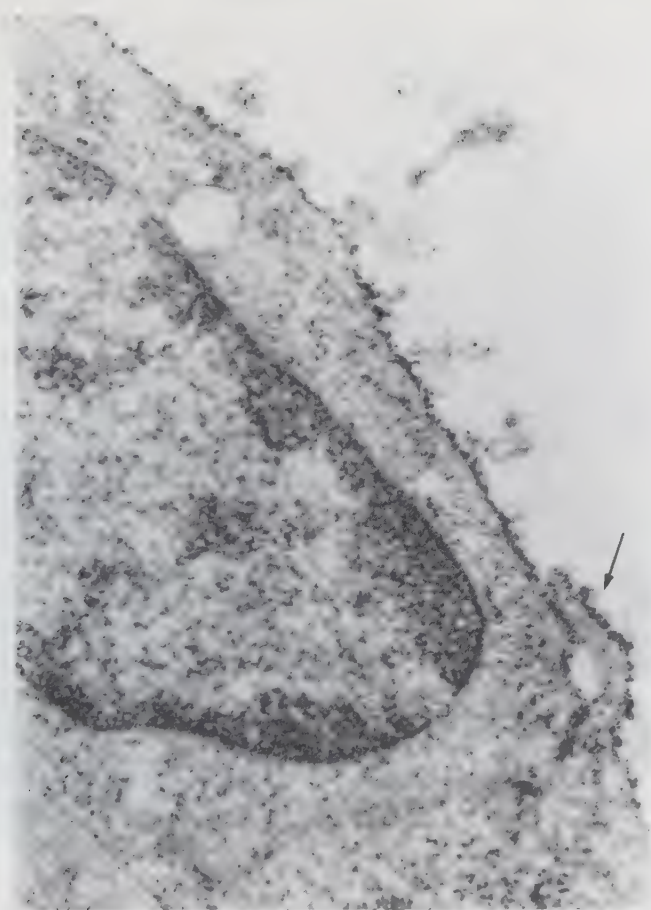


Abb. 4b: Mäuseaorta. Vergr.: 66000:1.

Rutheniumrotpartikel (ca. 15 m μ groß) auf Endothelzell-
oberfläche. Zellfortsatz (flap) mit Rutheniumbelag (Pfeil).

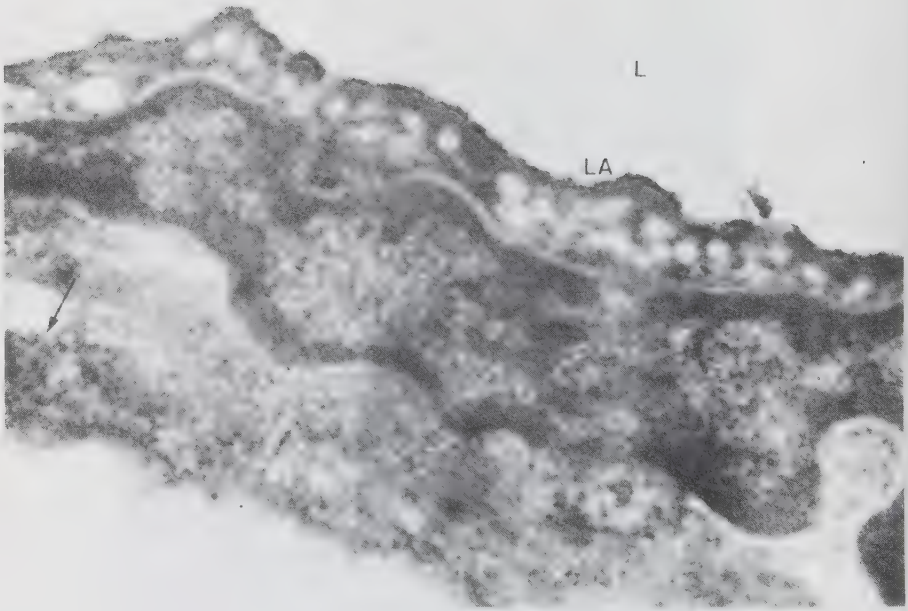


Abb.5: Mäuseaorta. Vergr.:96000:1.

Blutleeres Aortenlumen (L). Dichter Lanthansaum (ca. 0,2 μ m dick), der sich lumenwärts wolkig auflockert auf freier Endotheloberfläche (LA). Intrazelluläre basisnahe Lanthanpartikel (Pfeil).

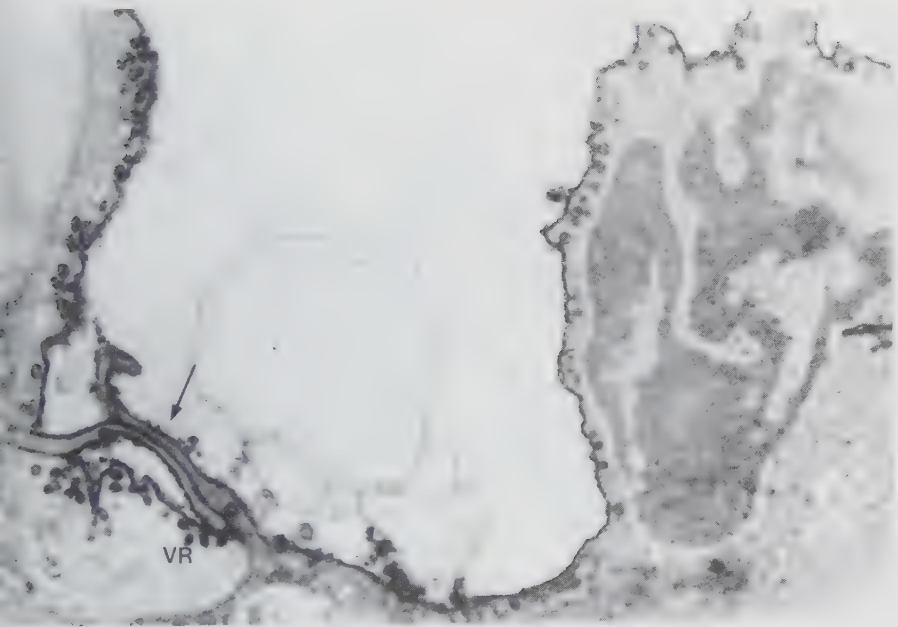


Abb. 6a: Mäuseaorta. Vergr.: 35000:1.

Blutleeres Lumen. Kontinuierlicher Rutheniumrotsaum auf Endotheloberfläche. Zwei schmale Endothelausläufer (flaps) mit Rutheniumrotbelag (Pfeil). Rutheniumrotgefüllte cytoplasmatische Vesikel unterhalb der Zellmembran (VR).

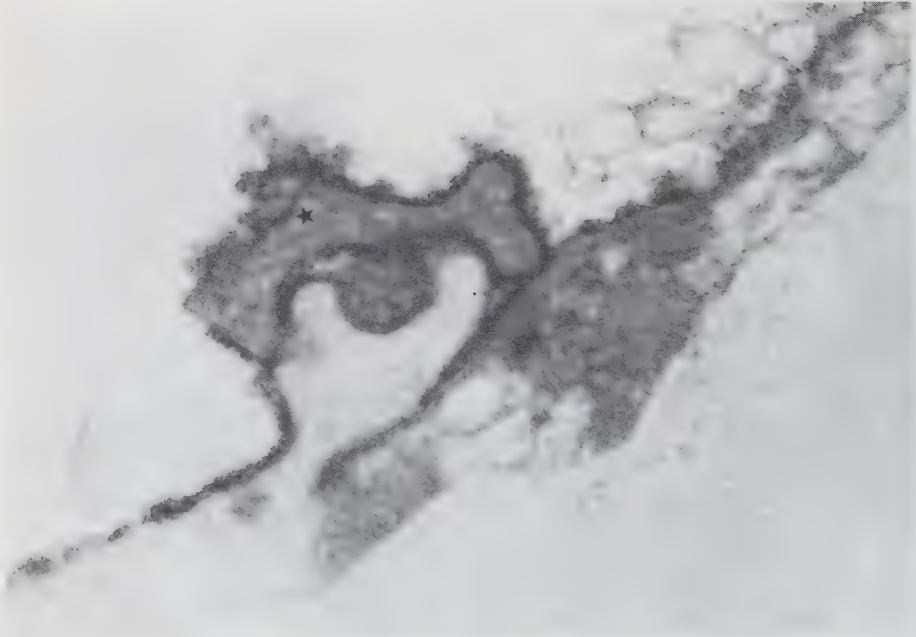


Abb.6b: Mäuseaorta. Vergr.: 132000:1.

Stärkere Vergrößerung eines dichten, lumenwärts wolkig aufgelockerten Rutheniumrotsaumes (ca. 15 m/ μ dick) auf cytoplasmatischer Doppellamelle einer Endothelzelle. Querschnitt eines anliegenden Endothelfortsatzes(+).

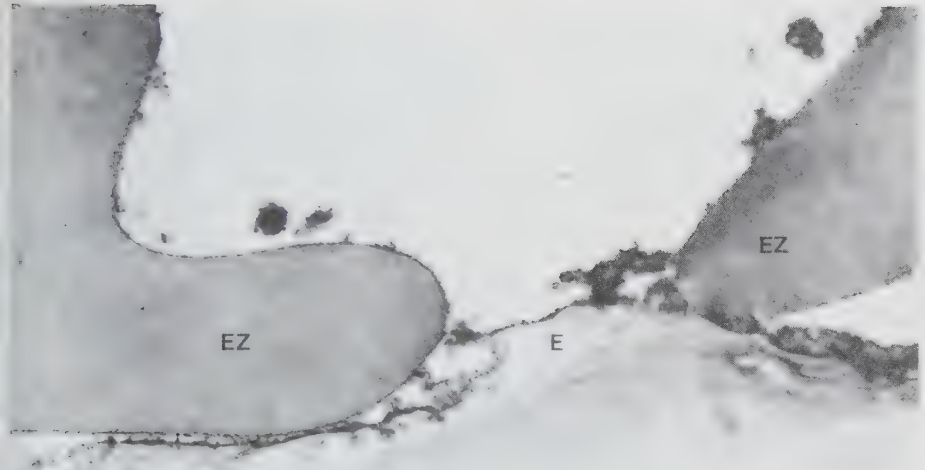


Abb.7: Mäuseaorta. Vergr.: 44000:1.

Feinstes filamentäres Material mit Rutheniumrotpartikel auf der Membran zweier Erythrozyten (EZ), die auf einer Endothelzelle (E) haften. Zustand nach Perfusion mit physiologischer NaCl-Lösung und Rutheniumrot.

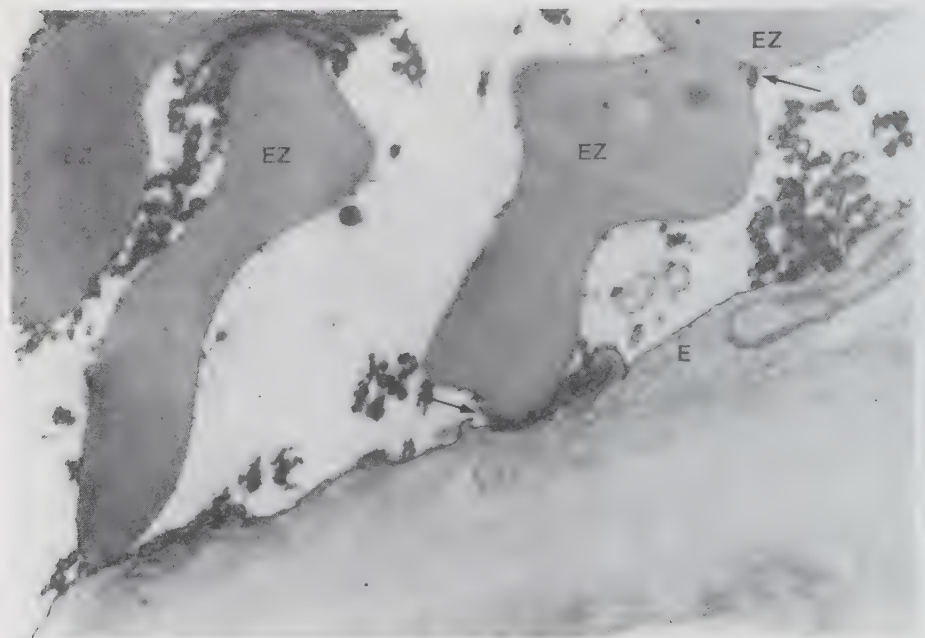


Abb.8: Mäuseaorta. Vergr.: 22000:1.

Vier untereinander und mit dem Endothel (E) adhären (Pfeile) Erythrozyten (EZ). Körniges Rutheniumrot auf allen Membranoberflächen. Plasmabestandteile im Lumen. Zustand nach Perfusion mit physiologischer NaCl-Lösung und Rutheniumrot.

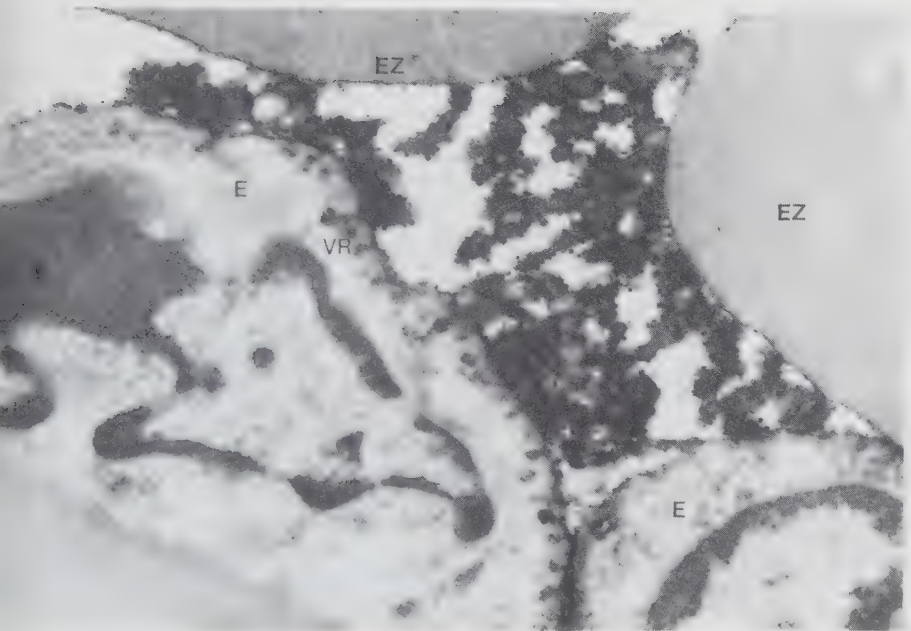


Abb. 9a: Mäuseaorta. Vergr.: 54000:1.

Zwei auf Endothelzellen (E) haftende Erythrozyten (EZ).
Wolkige Plasmabestandteile mit zahlreichen Rutheniumrot-
partikeln (ca. $1,9 \mu$ groß). Rutheniumrothaltige cyto-
pemptische Vesikel (VR). Zustand nach Perfusion mit 0,9%iger
Na-Cl-Lösung und Rutheniumrot.

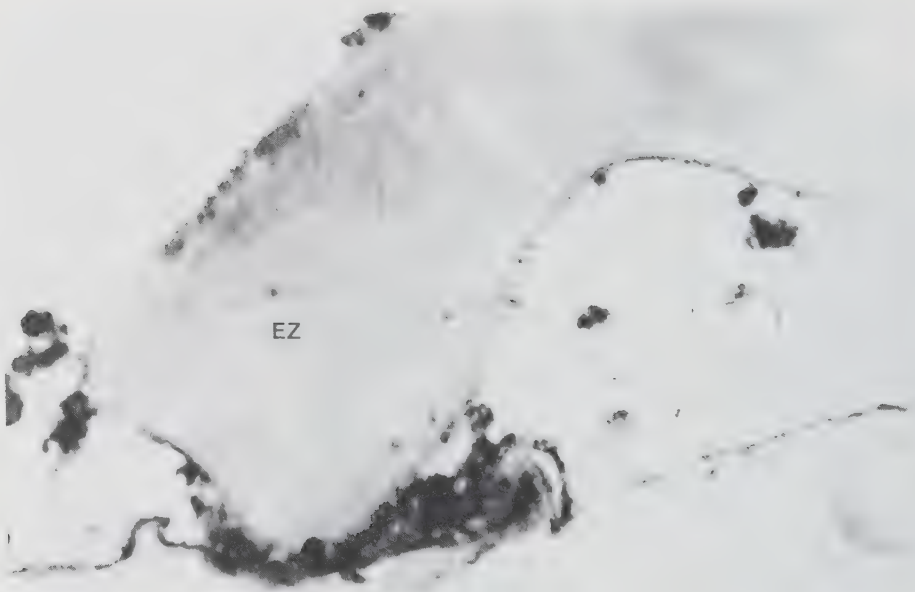


Abb. 9b: Mäuseaorta. Vergr.: 44000:1.

Stärkere Vergrößerung eines adhärenen Erythrozyten (EZ)
an einer Endothelzelle, dazwischen Plasmabestandteile.

Rutheniumrotsaum auf Endothel- und Erythrozytenoberfläche.
Zustand nach Perfusion mit 0,9%iger NaCl-Lösung und Rutheniumrot.

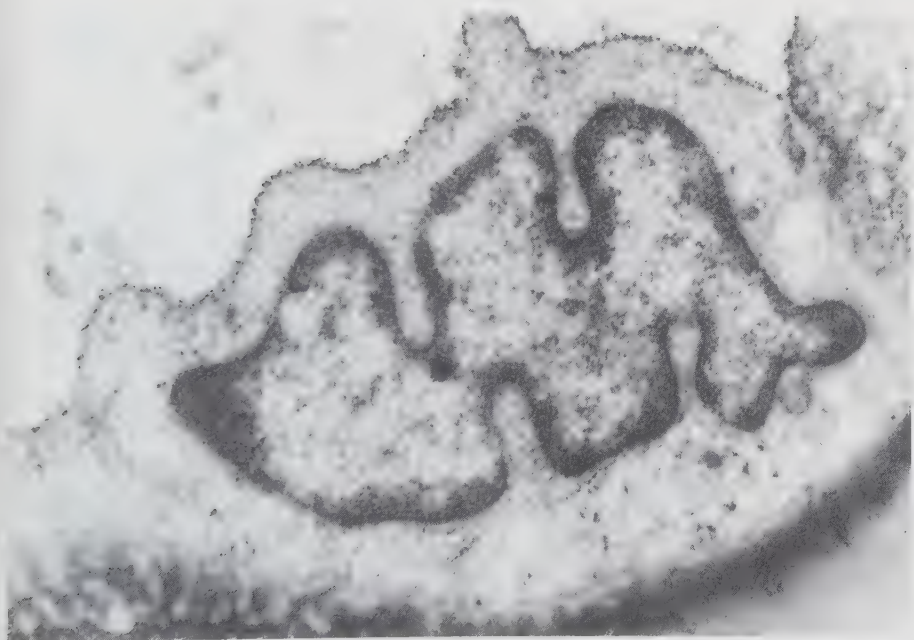


Abb. 10a: Mäuseaorta. Vergr.: 48000:1.
Rutheniumrotpartikel (ca. 1 m μ groß) auf einer Endo-
theloberfläche.

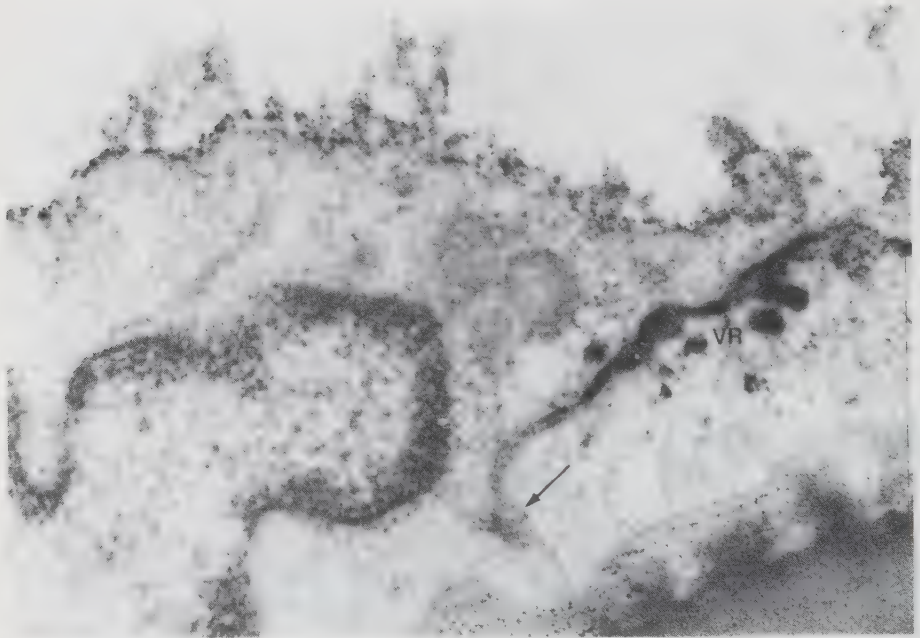


Abb. 10b: Mäuseaorta. Vergr.: 72000:1.

Rutheniumrotpartikel (ca. 1,4 m/ μ groß), eingebettet in wolkiges Material auf der Endotheloberfläche. Rutheniumrothaltiger Interzellularspalt mit beiderseitiger Vesikelbildung (VR). Tight junction mit fünfschichtigem Aufbau (Pfeil).

7. Literaturverzeichnis

- BELL, F.P.,
I.ADAMSON,
C.J.SCHWARTZ Aortic endothelial permeability
 to albumin: Focal and regional
 patterns of uptake and trans-
 mural distribution of I¹³¹I-albu-
 min in the young pig.
 Exp.Mol.Pathol. 20: 57-68, 1974 a
- BENNET,H.S. Morphological aspects of extra-
 cellular polysaccharides.
 J.Histochem.Cytochem. 11: 14-23,
 1963
- BIERRING,F.,
T.KOBAYASI Electron microscopy of the normal
 rabbit aorta.
 Acta path.microbiol.scand. 57:154-168,
 1963
- BONNER,J. The chemistry and physiology of the
 pectins.
 Botan.Rev. 2: 475-497, 1936
- BUCK,R.C. The fine structure of endothelium
 of large arteries.
 J.biophys.biochem.Cytol. 4: 187-190, 1958
- BUCK,R.C. The fine structure of the aortic
 endothelial lesions in experimental
 cholesterol atherosclerosis of
 rabbits.
 Amer.J.Path. 34: 897-909, 1958
- BUCK,R.C. The fine structure of arterial
 endothelium.
 Anat.Rec. 130: 452-453, 1958

- FRIEDMAN, M.,
BYERS, S.O. Endothelial permeability in atherosclerosis.
Arch.Path. 76: 99-105, 1963
- GANG, N.F. Ultrastructure of the glomerular basement membrane as visualized by lanthanum.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 135:223-227, 1970
- GEER, J.C. Fine structure of canine experimental atherosclerosis.
Amer.J.Path. 47:241, 1965
- GEER, J.C.,
H.C.McGILL,
J.P.STONG The fine structure of human atherosclerotic lesions.
Amer.J.Path. 38:263-287, 1961
- GRETEN, H. Untersuchungen zum Stoffwechsel menschlicher Chylomikronen.
Klin.Wschr. 52: 947-955, 1974
- HACKENSELLNER, H.A.,
H.DAVID Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen am Endothel großer Gefäße.
Frankf.Z.Path. 71:194-202, 1961
- HAM, K.N. The fine structure of normal rat aorta.
Austr.J.exp.Biol.med.Sci. 40: 341-352, 1962
- KARNOVSKY, M.J.,
J.P.REVEL Hexagonal pattern in tight junctions as revealed by neutral lanthanum suspensions.
J.Cell.Biol. 31: 56A-57A, 1966

- KARRER, H.E. An electron microscope study of the
aorta in young and in aging mice.
J.Ultrastruc.Res. 5: 1-27, 1961
- KEECH, M.K. Electron microscope study of the normal
rat aorta.
J.biophys.biochem.Cytol. 7: 533-538, 1960
- KUROZUMI, T. Electron microscopic study on permea-
bility of the aorta and basilar artery
of the rabbit - with special reference
to the changes of permeability by hyper-
cholesteremia.
Exp.Mol.Pathol. 23: 1-11, 1975
- LESSEPS, R.J. The removal by phospholipase C of a
layer of lanthanum-staining material
external to the cell membrane in embryonic
chick cells.
J.Cell.Biol. 34: 173-183, 1967
- LUFT, J.H. Fine structure of capillary and endo-
capillary layer as revealed by ruthenium
red.
Fed.Proc. 25: 1773-1783, 1966
- LUFT, J.H. The fine structure of hyaline cartilage
matrix following ruthenium red fixative
and staining.
J.Cell.Biol. 27: 61A, 1965 b
- LUFT, J.H. Electron microscopy of cell extraneous
coats as revealed by ruthenium red
staining.
J.Cell.Biol. 23: 54 A, 1964

- LUFT, J.H. Ruthenium red and violet. I
Chemistry, purification, methods of
use, and mechanism of action.
Private Veröffentlichung, 1966
- MAJNO, G. Ultrastructure of the vascular membrane.
Handbook of physiology (W.F.Hamilton and
P.Dow edit.) sect. 2.Vol. 3.chap 64
p. 2293-2374,
Washington D.C., Amer.Physiological Society,
1963
- MARCHESI, V.T.,
T.W.TILLACK,
R.L.JACKSON,
J.P.SEGREST,
R.E.SCOTT Chemical characterization and surface
orientation of the major glycoprotein
of the human erythrocyte membrane.
Proc.Natl.Acad.Sci. USA
69: 1445, 1972
- MCGILL, H.C.,
J.C.GEER,
R.L. HOLMAN Sites of vascular vulnerability in dogs
demonstrated by Evans Blue.
Arch.Path. 64: 303-311, 1957
- MERKER, H.J.,
J.WOLF Ultrastruktur und Bildung von Poren im
Endothel von porösen und geschlossenen
Kapillaren.
Z.Zellforsch. 73: 174-191, 1966
- MERKER, H.J. Elektronenmikroskopische Morphologie
der intestinalen Resorption.
Verh.Dtsch.Ges.Path. 53.Tg., Mainz 1969
- MOORE, D.H.,
H.RUSKA The fine structure of capillaries and
small arteries.
J.biophys.biochem.Cytol. 3:457-462,
1957

- NIESSING, K.,
H. ROLLHAUSER, Über den submikroskopischen Bau des
Grundhäutchens der Hirnkapillaren.
Z.Zellforsch. 39: 431-446, 1954
- OKA, S. Poiseuille award lecture. Present
status of hemorheological theory.
Biorheology 12: 157-168, 1975
- OVERTON, J. Localized lanthanum staining of the
intestinal brush border.
J.Cell.Biol. 38: 447-452, 1968
- PACKHAM, M.A.,
H.C. ROWSELL,
L. JØRGENSEN,
J.F. MUSTARD Localized protein accumulation in the
wall of the aorta.
Exp.Mol.Pathol. 7:214-232, 1967
- PAULE, W.J. Electron microscopic observations
of the rat aorta.
Anat.Rec. 133:321, 1959
- PAULE, W.J. Electron microscopic observations
of the newborn rat aorta.
Anat.Rec. 139: 263, 1961
- PAULE, W.J. Electron microscopy of the newborn
rat aorta.
J.Ultrastruc.Res. 8:219-235, 1963
- PEASE, D.C.,
S. MOLINARI Electron microscopy of muscular
arteries, pial vessels of the cat
and monkey.
J.Ultrastruc.Res. 3:447-468, 1960

- PEASE, D.C.,
W.J. PAULE Electron microscopy of elastic arteries: thoracic aorta of the rat.
J.Ultrastruc.Res. 3:469-483, 1960
- PICKARTZ, H.,
H.-J. STOLPMANN Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Anlagerung von Rutheniumrot und Lanthan an Zelloberflächen.
Verh.Dtsch.Ges.Path. 58: 563, 1974
- PIERCE, G.B. The epithelial origin of basement membrane.
J.Cell.Biol. 23: 74 A(151), 1964
- REALE, E.,
H. RUSKA Die Feinstruktur der Gefäßwand.
Angiologica 2:314-366, 1965
- REVEL, J.P.,
M.J. KARNOVSKY Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver.
J.Cell.Biol. 33: C 7- C 12, 1967
- RHODIN, The diaphragma of capillary endothelial fenestrations.
J.Ultrastruc.Res. 6:171-185, 1962
- SCHATZKI, P.F. Bile canaliculus and space of disse; electron microscopic relationships as delineated by lanthanum.
Lab.Invest. 20: 87-93, 1969
- SCHNEPF, E. Zur Cytologie und Physiologie pflanzlicher Drüsen.
1. Teil: Über den Fangschleim der Insektivoren.
Flora 153: 1-22, 1963

- SOMER, J.B.,
G. EVANS,
C.J. SCHWARTZ
Influence of experimental aortic
coarctation on the pattern of aortic
Evans Blue uptake in vivo.
Atherosclerosis 16: 127-133, 1972
- STEBBENS, W.E.
Properties of endothelium.
D.Phil. Thesis, University of Oxford,
Oxford 1960
- STEBBENS, W.E.
The basal attachment of endothelial
cells.
J. Ultrastruc. Res. 15: 389-399, 1966
- TS'AO, C.H.,
T.H. SPAET
Ultramicroscopic changes of the rabbit
inferior vena cava following partial
constriction.
Amer. J. Path. 51: 789, 1967
- TS'AO, C.H.,
GLAGOW
Platelet adhesion to subendothelial
components in experimental aortic
injury: Role of the fine fibrils
and basement membrane.
Brit. J. Exp. Path. 51: 423, 1970
- TS'AO, C.H.
Basal endothelial attachment.
Tenacity at cytoplasmic dense zones
in the rabbit aorta.
(Dept. Path., Pritzker School Med.,
Univ. of Chicago, Chicago, Ill.)
Lab. Invest. 23: 510-516, 1970
- ZILVERSMITH, D.B.
A proposal linking atherogenesis
to the interaction of endothelial
lipoprotein lipase with triglyceride-
rich lipoproteins.
Circ. Res. 33: 633-633, 1973

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr.H.-J. S t o l p m a n n, für die Überlassung des Themas und die Vielzahl der hilfreichen Anregungen, die er mir gab, zu danken.

Zudem bin ich dem ehemaligen Leiter des Pathologischen Institutes des Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin, Herrn Prof.Dr.W. M a s s h o f f, für die Möglichkeit der Arbeit im Institut, sowie allen Mitarbeitern der elektronenmikroskopischen Abteilung für die effektive Zusammenarbeit zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 4.1.1947 wurde ich als Sohn des Frisörs Horst Jantke und seiner Ehefrau Dorothea Jantke, geb.Gottschalk, in Berlin geboren. 1953 kam ich in die 12.Grundschule Berlin-Lichterfelde und besuchte ab 1959 die Tannenberg Oberschule - Wissenschaftlicher Zweig -, Berlin-Steglitz, an der ich am 3.3.1966 das Abitur ablegte.

Im Sommersemester 1966 begann ich das Medizinstudium an der Freien Universität Berlin. Hier legte ich 1967 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1969 die ärztliche Vorprüfung ab. Im Sommersemester 1970 studierte ich an der Christian-Albrechts-Universität Kiel und schloß mein Studium an der Freien Universität Berlin am 1.3.1973 mit der ärztlichen Prüfung ab.

In der folgenden Medizinalassistentenzeit arbeitete ich in den Fächern Pathologie, innere Medizin und Chirurgie. Meine Approbation als Arzt wurde am 23.10.1974 durch den Senator für Gesundheit und Umweltschutz in Berlin ausgesprochen.

Vom 1.12.1974 arbeitete ich für ein Jahr als Assistenzarzt in der I Inneren Abteilung des Städt.Krankenhauses Neukölln.

Seit dem 1.2.1976 bin ich als wissenschaftlicher Assistent in der Fett- und Stoffwechselambulanz der Medizinischen Poliklinik des Klinikum Charlottenburg tätig.

